

菅野 純、トキシコゲノミクス(Percellome Project)を基盤とした分子毒性学の展開の試み、第35回日本トキシコロジー学会学術年会、2008年6月26日、東京、口演

北嶋 聡、菅野 純、トキシコゲノミクスによる毒性評価法の高精細化、第35回日本トキシコロジー学会学術年会、2008年6月27日、東京、口演

妹尾英樹、梅田ゆみ、片桐 卓、相磯成敏、長野 嘉介、福島昭治、N,N-Dimethylformamideの吸入曝露と飲水投与における肝臓病変の比較、第25回日本毒性病理学会、2009年1月、浜松  
浅倉眞澄、杉山淑江、長野嘉介、松岡厚子、福島昭治、ナノ材料のin vitro安全性評価手法の開発 -1- 二酸化チタン、第37回日本環境変異原学会、2008年11月

高信健司、竹内哲也、奥田裕計、長野嘉介、福島昭治、アクリル酸エステル吸入曝露によるラットの生殖機能や児の発育に及ぼす影響、第81回日本産業衛生学会、2008年6月、札幌

#### H. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
なし

## Ⅱ. 分担研究報告書

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）  
分担研究報告書

トキシコゲノミクスに有用な吸入暴露システムの開発・改良と吸入暴露

研究分担者 小川幸男

国立医薬品食品衛生研究所・安全性生物試験研究センター・毒性部・室長

研究協力者 山本雅也 国立医薬品食品衛生研究所安全性生物試験研究センター毒性部  
北嶋聡 国立医薬品食品衛生研究所安全性生物試験研究センター毒性部  
近藤優子 国立医薬品食品衛生研究所安全性生物試験研究センター毒性部  
安彦行人 国立医薬品食品衛生研究所安全性生物試験研究センター毒性部

研究要旨

本研究は、化学物質リスク評価法の基盤整備として、日常生活に於いて使用あるいは受動的に暴露される様々な化学物質の安全性確保の為の毒性発現メカニズムに基づいた、より迅速、定量的、且つ、高精度な吸入毒性評価システムを構築することを目的とする。特にシックハウス症候群の様に、人に於ける被害報告濃度と実験動物の器質変化濃度の乖離が指摘されてきた極低濃度吸入毒性への理論的及び現実的な対応を包含することを目指すものである。

先行3年間研究（厚労科研・化学物質リスク研究事業「化学物質の経気道暴露による毒性評価手法の開発、高度化に関する研究」(H17-化学一般-003)）に於いて、「厚生労働省シックハウス問題に関する検討会」が掲げる13物質の内、ホルマリン、アセトアルデヒドを始めとしてトルエン、キシレン、スチレン、テトラデカン<sup>1</sup>の気化性物質について同検討会・室内指針値付近の極低濃度に於ける暴露実験を実施し、肺及び肝臓の網羅的遺伝子発現変動解析によるデータの蓄積（一化合物につき、単回暴露、反復暴露など3プロトコール、各48匹、肺及び肝の2臓器、延べ6,300万遺伝子発現情報）及び、インフォマティクス解析により低濃度吸入毒性の特性を示唆する生物学的に興味深い所見が得られている。

本研究では、先行研究の成果を踏まえ、上記13物質の内、パラジクロルベンゼンなどの昇華性化学物質の極低濃度吸入暴露実験の実施と肺を主体とした遺伝子発現解析、データベース構築を推進する。また、本研究はPercellome標準化手法を用いて当毒性部が用意する肝や脳に関するトキシコゲノミクスデータとの対比を行うことが可能であり、血液を介した全身影響、或いは嗅覚等を介した神経影響等を包括的に評価することが可能となると期待される。これは、ホルムアルデヒド等によるシックハウス症候群の本態解明と、新規物質への予測体系の整備への端緒となること



が期待される。

先行研究で使用したシステムを用い、パラジクロルベンゼンを含む昇華性化学物質に対応した発生器を製作、急性吸入毒性に関わる極低濃度暴露システムとした上で、急性吸入暴露実験を実施する。このための化学物質の精密な気中への拡散法（発生方法）、希釈などによる吸入チャンバー内の化学物質の濃度コントロール（濃度の安定）、及び吸入チャンバー内の濃度をモニターするための各方法の開発・検討を行う。

パラジクロルベンゼンの急性吸入暴露(2時間単回)実験に際しては、発生器及び発生空気を加温する装置を開発することが出来、これにより暴露期間内の極低濃度ガスが得られ、動物への急性吸入暴露と肺及び肝臓サンプルの採取が終了した。フタル酸類は蒸気圧が低く、バブリング法などの方法により十分なガスの発生ができないことから、暴露実験を中止した。濃度測定は捕集管法を用いることで、当初の目的を達成した。

今後更に、シックハウス症候群の原因といわれる昇華性化学物質のガス発生方法等について検討を加え、動物への暴露を行う予定である。

#### A. 研究目的

シックハウス症候群の様に、人に於ける被害報告濃度と実験動物の器質変化濃度の乖離が指摘されてきた吸入毒性分野、特に極低濃度暴露による影響を考慮した評価法の迅速化、定量化、高精度化、を通して包括的システムとしての確立を目的とする。

気化性化学物質の吸入によるリスク評価の基盤整備としてのトキシコゲノミクスとして、網羅的遺伝子発現プロファイリングを基にしたインフォマティクス技術の構築を通して、日常生活に於いて暴露される様々な気化性化学物質の安全性確保の為の、毒性発現メカニズムに基づいた、より迅速且つ正確・精密な吸入毒性評価システムを作成することで目的を達成しようとするものである。

シックハウス症候群に関しては原因物質としてホルムアルデヒド等の13物質に対して、室内濃度指針値が設定されている。

しかし、従来の動物試験での症候検出可能濃度とヒトに於いて報告される症候発現濃度には隔たりがあるため、室内空気汚染化学物質等の低濃度吸入暴露方法を確立するとともに、トキシコゲノミクス手法をこれに適応し、肺及び肝臓での遺伝子発現量を解析することで、これを埋めることを検討する。

横層流型の大型チャンバー(容積3m<sup>3</sup>、柴田科学、Photo. 1)、縦層流大型チャンバー(容積600L、柴田科学、Photo. 2)を用い、ベンゼン等の気化性の高い物質の低濃度吸入暴露が比較的容易であるが、このシステムに変更を加え、昇華性化学物質にも対応が可能なものとし、室内汚染化学物質の濃度指針値を参考に、さらに理論的にも難しいとされている極低濃度暴露のための化学物質の精密な発生方法、希釈などによる吸入チャンバー内の化学物質の濃度コントロール、及び吸入チャンバー内の濃度をモニタ



一するための各方法の開発・検討を行うとともに、マウスに暴露し肝臓及び肺のサンプリングを行い、遺伝子発現解析に供する。

## B. 研究方法

所有する暴露施設のシステムを改修、昇華性化学物質に対しても対応が可能なものとし、急性吸入毒性に関わる極低濃度暴露システムの開発・改良、マウスを用いた2時間の急性吸入暴露実験を実施する。極低濃度暴露のための化学物質の精密な発生方法、希釈などによる吸入チャンバー内の化学物質の濃度コントロール、及び吸入チャンバー内の濃度をモニターするための各方法の開発・検討を行う。

これらの発生方法等の開発・検討結果に基づき吸入チャンバー内の化学物質濃度の測定を行いつつ、雄のC57BL/6CrSlcマウス(12週齢、日本SLC)に2時間の暴露を行い、マウスの肺及び肝臓サンプルは、2時間の暴露直後(12時)、暴露終了2時間後(14時)、暴露終了6時間後(18時)、暴露終了22時間後(翌日10時)に、1群3匹の4群計48匹から遺伝子発現量解析用に採取する。

動物は雄のC57BL/6CrSlcマウス(日本SLC)を10週齢にて購入、2週間順化飼育後実験に供した。飼育ケージは木製チップを敷いたポリカーボネートケージ(200×300×130mm)を用いて個別飼育し、暴露時には4連の金網ケージ(77×230×120mm)に收容した。なお暴露時は給餌及び給水を行わなかった。動物室内の環境は、室温 $23\pm 1^{\circ}\text{C}$ 、湿度 $55\pm 5\%$ 、換気は16回/時、明暗サイクルは12時間点灯(8:00~20:00点灯、20:00~8:00消灯)とした。

暴露チャンバーは、大型横層流(容積 $3\text{m}^3$ 、柴田科学、Photo. 1)を用い、内部環境は温

度 $23\pm 1^{\circ}\text{C}$ 、湿度 $55\pm 5\%$ 、明暗サイクルは12時間点灯(8:00~20:00点灯、20:00~8:00消灯)とし換気は650L/分(13回/時)、室内との差圧は $-5\sim -10\text{mmH}_2\text{O}$ とした。外気を空調機により温湿度調整を行い、HEPAフィルター及び活性炭フィルターを通し浄化した換気空気を用い、発生させたガスの希釈を行い暴露チャンバー内へ送気した。

### 1. フタル酸ジエチルヘキシル(DEHP)

DEHPは硬いポリ塩化ビニルに柔軟性を与える唯一の化学物質である。DEHPで柔軟性を与えられたプラスチックは、建材、食品容器、及び医器具など多数の製品中に見られる。DEHPはプラスチック中で強固な化学的結合を形成しないので、ある量は外部に漏れ出ることがあり、食品、屋内空気、家庭内のほこり及び医療に関連する様々な物質や用品中で検出されている。

本物質を用い動物への暴露実験を行うに当たり、国際化学物質安全性カードあるいは化学物質等安全データシート等に記載されている蒸気圧、 $0.001\text{ kPa}$ ( $20^{\circ}\text{C}$ )を基に発生するガス濃度の計算を行った。バブリング法を利用する発生系(柴田科学、Photo. 1)を用い、これにより発生させたガスを希釈して暴露を行うことが可能と思われた。

DEHPのマウスへの暴露濃度を、室内汚染化学物質の室内濃度指針値である $7.6\text{ ppb}$ から、低濃度を $7.6\text{ ppb}$ とし、公比3で25、76 ppbと目標として設定した。

上記の極低濃度を目標とするため、濃度測定は捕集管(スペルコ、ORBO-5020、Photo. 3)を用いる方法しか選択の余地はなかった。捕集管法は捕集管内のカラムにチャンバー内空気を流し、捕集したDEHPをトルエンで抽出し、これをガスマススペクトルで測定



する方法で、「シックハウス（室内空気汚染）問題に関する検討会」が推奨する方法の一つである。1L/分でチャンバー内及び動物飼育室内の空気を定流量ポンプ（MPΣ-300、柴田科学、Photo. 3）により、120分間捕集管へ通し、この捕集管を測定機関（財団法人化学物質評価研究機構東京事業所）に送付し、分析を依頼した。

## 2. パラジクロルベンゼン（p-DCB）

p-DCBは衣類の防虫剤やトイレの芳香剤として家庭において多用されている物質である。これらを使用するタンスやトイレから流出して、家庭の室内を汚染することが知られている。

p-DCBの暴露試験は、蒸気圧の低い昇華性の化合物にも応用可能な多段式の発生器を新たに設計製作し、使用する予定であった（柴田科学、Photo. 2）。しかし、発生器の能力検査の段階でドア部に漏出が発見されたため、再度点検修理を行うこととした。実際に用いたp-DCB用発生装置は、小型チャンバーに使用されている廃気洗浄用のガラス瓶を用いて別途製作し（Photo. 4）使用した。高圧空気を二つの流路に分け、一方は温浴を通してp-DCBを入れた温浴中のガラス瓶へ流量計で調整しつつ導入し、もう一方の高圧空気はガラス瓶から出た高濃度のp-DCBを直ちに希釈するため合流させ、この一次希釈したガスをそれぞれの横層流型チャンバー内へ換気送流させている清浄空気に希釈混合し流入させることで、暴露を行うことが可能と思われた。

p-DCBの Maus への暴露濃度を、室内汚染化学物質の室内濃度指針値である 0.04ppm ( $240 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ) から、低濃度を 0.04ppm とし、公比 3 で 0.12、0.4ppm と設定した。

上記の極低濃度を目標とするため、濃度測定は捕集管（活性炭カラム、柴田科学、Photo. 3）を用いる方法しか選択の余地がなかった。捕集管法は活性炭カラムにチャンバー内空気を流し、活性炭に捕集した有機ガスを有機溶剤で抽出し、これをガスクロマトグラフで測定する方法で、「シックハウス（室内空気汚染）問題に関する検討会」が推奨する方法の一つである。Maus への 120分間の暴露中のチャンバー内及び動物飼育室内空気を定流量ポンプ（1L/分：MPΣ-300（柴田科学、Photo. 3）で捕集管へ通し、これを測定機関（財団法人東京顕微鏡院）に送付し、分析を依頼した。

## 3. 7日間連続暴露試験

p-DCBの1日6時間及び22時間、7日間連続暴露試験は本試験と同様の発生器加温による発生法、捕集管を用いる濃度測定方法を用い日本バイオアッセイ研究センターに委託し、行った。詳細は委託研究報告Ⅰ）及びⅡ）を参照。

テトラデカンの1日6時間及び22時間、7日間連続暴露試験は前年度の試験と同様バブリングによる発生法、捕集管を用いる濃度測定方法を用い日本バイオアッセイ研究センターに委託し、行った。詳細は委託研究報告Ⅲ）及びⅣ）を参照。

### （倫理面への配慮）

当所内の動物実験倫理委員会が定めた指針に則り、動物の飼育には適正な居住空間を確保、清潔なケージや器材を使用し、動物に苦痛を与えないため、採血及び屠殺処分に際しては麻酔を行うなど、細心の注意を払っている。



## C. 研究結果

### 1. フタル酸ジエチルヘキシル (DEHP)

DEHPは融点が $-50^{\circ}\text{C}$ 、沸点が $385^{\circ}\text{C}$ 常温では液体である。国際化学物質安全性カードあるいは化学物質等安全データシートに記載されている蒸気圧は、 $0.001\text{ kPa}$  ( $20^{\circ}\text{C}$ ) ( $0.008\text{mmHg}$ )である。この蒸気圧データを基に、発生器タンク内に投入した温度 $20^{\circ}\text{C}$ に於けるDEHP気中濃度は $7.5\text{ppm}$ と想定され、加熱パプリング法によりDEHPを気化させ一定濃度のDEHP蒸気を得ることが可能と判断した。

DEHPは、和光純薬工業(株)製の純度 $97.0\%$  (和光純薬工業(株)測定値、試薬特級)を使用した。目標の暴露チャンバー内濃度を得るため、タンク内のDEHP濃度を $7.5\text{ppm}$ と予測し、発生器内へ送り込む空気流量を $11\text{L/分}$ に設定、暴露チャンバーへ供給する流量を $7.6\text{ppb}$ には $0.8\text{L/分}$ 、 $25\text{ppb}$ には $2.4\text{L/分}$ 、 $76\text{ppb}$ には $7.9\text{L/分}$ とした。吸入チャンバー内の濃度は、定流量ポンプ (MP  $\Sigma$ -300、柴田科学、Photo. 3) を用い、動物を収容するケージに隣接設置したパイプより捕集管 (スペルコ、ORBO-5020、Photo. 3) へと吸入チャンバー内の空気を $120\text{分間}$ 吸引し、分析測定した。捕集管は、測定機関 (財団法人化学物質評価研究機構東京事業所) に送付し、分析を依頼した。捕集管法はカラムにチャンバー内空気を流し捕集した有機ガスを有機溶剤で抽出し、これをガスマスで測定する方法で、「シックハウス (室内空気汚染) 問題に関する検討会」が推奨する方法である。測定した室内空気及び各チャンバー内の濃度は、全てブランクと同じであり、検出限界以下であった。さらに、蒸気圧に基づいた計算上の濃度が、発生タンク内において得られていることを確認するた

め、発生器内濃度を捕集管により測定した。しかし、発生器内で測定したDEHPの濃度はブランクと同じ、検出限界以下であった。そこで再度、蒸気圧を記載している文献の調査を行ったところ、環境保健クライテリア 131には、 $0.00086\text{ Pa}$ 、化学物質の初期リスク評価書には  $3.04 \times 10^{-5}\text{ Pa}$  ( $20^{\circ}\text{C}$ )、JRC EUROPEAN COMMISSION のリスク評価書には  $0.000034\text{ Pa}$  ( $20^{\circ}\text{C}$ ) と記載されており、蒸気圧は当初の計算に用いた値より千分の一以下と低く、発生器からガス濃度が得られないことから、これらの値が正しいものと思われた。

この文献値及び発生器内濃度の測定結果から、DEHPの蒸気圧は、目標のガス濃度が得られるほど高くないため、実験を中止した。DEHPによる暴露を行うには、ミストを発生させる方法で行う必要があり、そのためのミスト発生器と縦総流チャンバーを設置する必要があり、本研究班のガス体による動物への暴露試験のスキームには不相当と判断した。

### 2. パラジクロルベンゼン

パラジクロルベンゼンは融点が $53^{\circ}\text{C}$ 、沸点が $174^{\circ}\text{C}$ 常温では固体の昇華性物質である。国際化学物質安全性カードあるいは化学物質等安全データシートに記載されている蒸気圧は、 $170\text{ Pa}$  ( $20^{\circ}\text{C}$ )である。p-DCBは、和光純薬工業(株)製の純度 $98.0\%$  (和光純薬工業(株)測定値、試薬特級)を使用した。

p-DCBの発生方法は、加熱溶解させ蒸気を得る方法と固体に空気を噴きつけて昇華させる方法がある。本実験の目標濃度は、極低濃度であるため、加熱溶解により高濃度のガスを発生させた場合、希釈倍率を高め



なければならず、希釈空気の脈流だけで濃度が不安定となり、本実験には不向きと考えられた。本実験では、必要な低濃度が安定的に得られる固体のまま昇華させる方法を採用した。

室内汚染化学物質の中でも農薬に類するような、多くの蒸気圧の低い昇華性の化合物に応用可能な多段式の発生器を新たに設計、製作した。昇華性化学物質の表面積を大きく、また温度を上げることによりガス圧も上昇する。この方法で設計し、蒸気圧が小さい物質であっても、暴露濃度がppbオーダーの低濃度であれば、目標濃度での動物に対する暴露が可能になると思われた。狭いスペースで化合物の表面積を大きくするため多くの棚を設置、その下部から緩やかに加温した発生空気を送気する形状で製作した(柴田科学、Photo. 2)。しかし、これらの物質はガス体から容易に結晶化し、温度の低い流路や金属性の電磁弁などに付着し流路を詰まらせ、濃度コントロールを不安定にする。これを解消するため、発生器で得られた高濃度のガスをすぐに大量の希釈空気により一次希釈をかけ、濃度を大きく下げてから各チャンバーへ分配供給するシステムを考え、製作した。

p-DCBの暴露試験は、この発生器(柴田科学、Photo. 2)を用いて行う予定であった。しかし、能力検査の段階でこのドア部に漏出が発見されたため、再度点検修理を行うこととした。p-DCB用発生装置はPhoto. 4に示すように、小型チャンバーなどに用いられている廃気を洗浄するためのガラス瓶を、多段式発生器(柴田科学、Photo. 2)の代わりに用いて別途製作し使用した。高圧空気を二つの流路に分け、片方は温浴を通して温度を上げ流量計で調整しつつ、p-DCB

を入れたガラス瓶内へ導入した。この発生瓶も温浴中に浸漬した。もう一方の高圧空気は、流量計で調整しつつ発生瓶から出た高濃度のp-DCBを直ちに希釈するため、この流路へ合流させた。この一次希釈したガスを各チャンバーへ供給する流量計により分配し、それぞれの横層流型チャンバー内へ換気送流させている清浄空気により希釈混合し流入させた(Photo. 4)。

p-DCBの Maus への暴露濃度を、室内汚染化学物質の室内濃度指針値である0.04ppm( $240 \mu\text{g}/\text{m}^3$ )から、低濃度を0.04ppmとし、公比3で0.12、0.4ppmと設定した。

吸入チャンバー内の濃度は、定流量ポンプ(MPΣ-300、柴田科学、Photo. 3)を用い、動物を収容するケージに隣接設置したパイプより2本の捕集管(活性炭カラム、柴田科学、Photo. 3)へと吸入チャンバー内の空気を120分間吸引し、分析測定した。捕集管法はカラムにチャンバー内空気を流し捕集した有機ガスを有機溶剤で抽出し、これをガスクロマトグラフで測定する方法で、「シックハウス(室内空気汚染)問題に関する検討会」が推奨する方法である。捕集管は測定機関(財団法人東京顕微鏡院)に送付し、分析を依頼した。

p-DCBの暴露期間中の濃度安定性は、所有するFIDガスクロマトグラフを用いる場合、数ppmが測定限界であり、本設定濃度は検知限界以下の濃度であり、またTVOCモニター(フィガロ技研、FTVR-01)はp-DCBに反応しないため、安定性の確認はできなかった。

初回の濃度測定試験は、発生空気の加温温度を30°C、発生空気量を0.7L/分、発生したガスを一次希釈する空気量を15L/分とし、この条件での発生ビン内濃度を600ppmと予測し、この希釈ガスを設定濃度0.04ppmのチ



チャンパーには1.0L/分、0.12ppmには2.9L/分、0.4ppmには9.7L/分を送気し、チャンパーの総換気空気650L/分により更に希釈し供給した。各チャンパーから1L/分で120L採気した捕集管(活性炭カラム, 柴田科学、Photo. 3)による測定濃度は0.023、0.068、0.223 ppmと目標より約40%低い、加温温度や供給量などを上げることで濃度を上げることが可能と判断した(Fig. 1)。

2回目の濃度測定試験では、発生空気の加温温度を40℃に上げ、発生空気量を1.0L/分に増やし、発生したガスを一次希釈する空気量は15L/分、このガスを設定濃度0.04ppmのチャンパーには1.0L/分、0.12ppmには2.9L/分、0.4ppmには10.0L/分と増加送気し、チャンパーの総換気空気650L/分により更に希釈し供給した。各チャンパーから1L/分で120L採気した捕集管(活性炭カラム, 柴田科学、Photo. 2)による測定濃度は0.034、0.099、0.308 ppmと目標より約20%低い、初回より20%改善された(Fig. 2)。

3回目の濃度測定試験では、発生空気の加温温度を60℃に上げ、他は2回目と同じ条件で行った。各チャンパーから1L/分で120L採気した捕集管(活性炭カラム, 柴田科学、Photo. 3)による測定濃度は0.030、0.093、0.324 ppmと目標より約20%低く、2回目とあまり差がなく、発生空気の温度を上げるとは濃度の大きな上昇を見込めないことが判明した(Fig. 3)。

4回目の濃度測定試験では、発生空気の加温温度は60℃とし、発生空気量を2.0L/分に増やし、新たにp-DCBを入れた発生ビンに40℃の恒温層へ浸漬した。一次希釈空気を15L/分とし、発生した2.0L/分のガスを希釈し、設定濃度0.04ppmのチャンパーには1.0L/分、0.12ppmには2.9L/分、0.4ppmには

10.0L/分を送気し、チャンパーの総換気空気650L/分により更に希釈し供給した。各チャンパーから1L/分で120L採気した捕集管(活性炭カラム, 柴田科学、Photo. 3)による測定濃度は0.087、0.242、0.979 ppmと目標の約200%と飛躍的に上昇し、発生ビンに40℃の恒温層へ浸漬することが濃度を大きく上昇させる大きな要因であることが判明した(Fig. 4)。

5回目の濃度測定試験では、発生空気の加温温度を60℃、発生空気量を2.0L/分、発生ビンの加温温度40℃、一次希釈空気量を15L/分の4回目の設定と同じまま、ガスを設定濃度0.04ppmのチャンパーには0.46L/分、0.12ppmには1.44L/分、0.4ppmには4.1L/分を送気、チャンパーの総換気空気650L/分により希釈し供給した。各チャンパーから1L/分で120L採気した捕集管(活性炭カラム, 柴田科学、Photo. 3)による測定濃度は0.051、0.178、0.547 ppmと設定濃度より3~4割ほど高いが、供給量を少し落とすことでほぼ目標濃度が得られるものと判断した(Fig. 5)。

本試験に於いては、上記の濃度試験結果を基に流量を減少させ、0.04ppmには0.36L/分、0.12ppmには0.97L/分、0.4ppmには2.99L/分を流入させた。各チャンパーから1L/分で120L採気した捕集管(活性炭カラム, 柴田科学、Photo. 3)による測定濃度は0.032、0.100、0.344 ppmと目標より15から20%ほど低い、ほぼ設定濃度が得られた(Fig. 6)。

対照群チャンパー内濃度及び室内濃度は0.0003 ppm( $2 \mu\text{g}/\text{m}^3$ )以下で低濃度群の0.04ppmと比し低い濃度であり、一般環境大気最大濃度 $14.0 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (環境省、2003)であり対照群チャンパーや室内は低く、調査対



象の一般家庭の室内空气中で検出される平均濃度  $0.12\text{mg}/\text{m}^3$  (環境省、2003) を大きく下回り、影響はないものと考えられた。

### 3. 7日間連続暴露試験

p-DCBの1日6時間及び22時間、7日間連続暴露試験は本試験と同様の発生器加温による発生法、捕集管を用いる濃度測定方法を用い日本バイオアッセイ研究センターに委託し、行った。詳細は委託研究報告 I) II) を参照。

テトラデカンの1日6時間及び22時間、7日間連続暴露試験は前年度の試験と同様バブリングによる発生法、捕集管を用いる濃度測定方法を用い日本バイオアッセイ研究センターに委託し、行った。詳細は委託研究報告 III) IV) を参照。

## D. 考察及び結論

### 1. フタル酸ジエチルヘキシル (DEHP)

フタル酸ジエチルヘキシルは、バブリング法によって発生させ濃度測定を行った。しかし、文献値及び発生器内濃度の測定結果から、DEHPの蒸気圧は、目標の濃度が得られるほど高くないため、本研究班のガス体による動物への暴露試験のスキームには不相当と判断し、実験を中止した。

DEHPの蒸気圧が非常に低く、容易にガス化しないというこの結果は、一般の家庭内空気においてもDEHPガス濃度は高くないことを示唆し、平成13年度に環境省が実施した室内空気調査に於いても最大濃度は  $3.4\mu\text{g}/\text{m}^3$ 、最小濃度  $23\text{ng}/\text{m}^3$  と指針値  $120\mu\text{g}/\text{m}^3$  よりかなり低い測定結果が得られており、DEHPは他の室内汚染化学物質に比べて低いようである。

### 2. パラジクロルベンゼン (p-DCB)

パラジクロルベンゼンは、ガラスびんを用いた発生装置を製作し、これによりガスを発生させ、それを二段階希釈することで、目標に近い  $0.032$ 、 $0.100$ 、 $0.344\text{ppm}$  という濃度を達成し、動物に暴露することができた。

動物飼育室の濃度は、 $1.14 \pm 0.24\text{ppb}$  ( $1.57 \pm 0.01\mu\text{g}/\text{m}^3$ )、設定した暴露低濃度とは1桁低い値であった。p-DCBの一般環境大気での最大濃度は  $14.0\mu\text{g}/\text{m}^3$  (環境省、2003) であり、動物室内における濃度はそれを下回り、一般家庭の室内空气中で検出される平均濃度  $120\mu\text{g}/\text{m}^3$  (国土交通省、2003) を大きく下回っていた。動物室あるいはチャンバー内へ大気中から導入する換気空気は、HEPAフィルターにより微細な粉塵や細菌を、活性炭フィルターにより多くの化学物質を除去するよう設計されている。従って、外気からのp-DCBガスの混入は極めて少ないものと思われ、また動物室内では一般家庭のような室内設備からのガスの発生もなく、対照群チャンバー及び動物室内の濃度は一般環境大気よりも低く保たれていた。

本実験に於いては、最低暴露濃度と対照群チャンバー及び動物室内のこれらガス濃度の差が一桁以上あることから、マウス器官の遺伝子発現解析実験に関して、大きな影響は与えないものと考えている。

### 3. 7日間連続暴露試験

p-DCBの1日6時間及び22時間、7日間連続暴露試験、テトラデカンの1日6時間及び22時間、7日間連続暴露試験は日本バイオアッセイ研究センターに委託し行われた。いずれの試験も、チャンバー内の被験物質濃度



は目標濃度を達成し、動物に対し問題なく暴露できた。

今後の試験に於いて、残る室内汚染化学物質のガス化は特に困難と思われ、これらの性状を精査検討した上で発生方法を試みる必要があり、シックハウス症候群の原因といわれる全ての物質についての実験が行える体制を整えるべく継続して発生法の検討を続けている。

本研究は、国の内外を問わずこれまで行われたことがなく、シックハウス症候群の発症解明につながる貴重な実験結果が得られることにより、国民のみならずその健康保持を担う行政においても意義の大きいものとする。

国際化学物質安全性カード

<http://www.nihs.go.jp/ICSC/icssj-c/ics0271c.html>

化学物質等安全データシート

<http://www.j-shiyaku.or.jp/home/msds/>

Environmental Health Criteria 131

<http://www.nihs.go.jp/hse/ehc/sum1/ehc131.html>

化学物質の初期リスク評価書

[http://www.safe.nite.go.jp/risk/files/pdf\\_hyoukasyo/272riskdoc.pdf#search='Bis\(2ethylhexyl\) phthalate'](http://www.safe.nite.go.jp/risk/files/pdf_hyoukasyo/272riskdoc.pdf#search='Bis(2ethylhexyl) phthalate')

JRC EUROPEAN COMMISSION, Institute for Health and Consumer Protection  
Toxicology and Chemical Substance (TCS),  
European Chemicals Bureau, I-21027 Ispra (VA) Italy.

<http://ecb.jrc.it/documents/Existing-C>

[hemicals/RISK\\_ASSESSMENT/SUMMARY/dehps042.pdf#search='Bis\(2ethylhexyl\) phthalate'](http://www.nihs.go.jp/chemi/RISK_ASSESSMENT/SUMMARY/dehps042.pdf#search='Bis(2ethylhexyl) phthalate')

環境省、平成13年度室内空気調査

<http://www.env.go.jp/chemi/end/kento1402/mat/mat03-2.pdf>

環境省、化学物質ファクトシート-2003年度版

<http://www.mhlw.go.jp/shingi/2005/04/d1/s0419-5e1.pdf>

## E. 研究発表

### 1. 論文発表

- |       |    |
|-------|----|
| 1) 書籍 | なし |
| 2) 雑誌 | なし |

### 2. 学会発表

五十嵐勝秀、小川幸男、笠井辰也、長野嘉介、北嶋聡、相崎健一、菅野純、シックハウス指針値レベルの経気道暴露による遺伝子発現変化のPercellome解析、第35回日本トキシコロジー学会学術年会、2008年6月28日、東京、ポスター

## F. 知的財産権の出願・登録状況

### 1. 特許取得

なし

### 2. 実用新案登録

なし

### 3. その他

なし



Photo. 1 3m<sup>3</sup>横層流大型チャンバー及びバブリング式発生装置  
(柴田科学)



Photo. 2 多段式昇華性物質用発生器(柴田科学)





Photo. 3 活性炭捕集管(柴田科学) と  
DEHP捕集管(スペルコ, ORB0-5020)

採気用ポンプ  
MPΣ-300 (柴田科学)



Photo. 4 p-DCB 用ガス発生装置

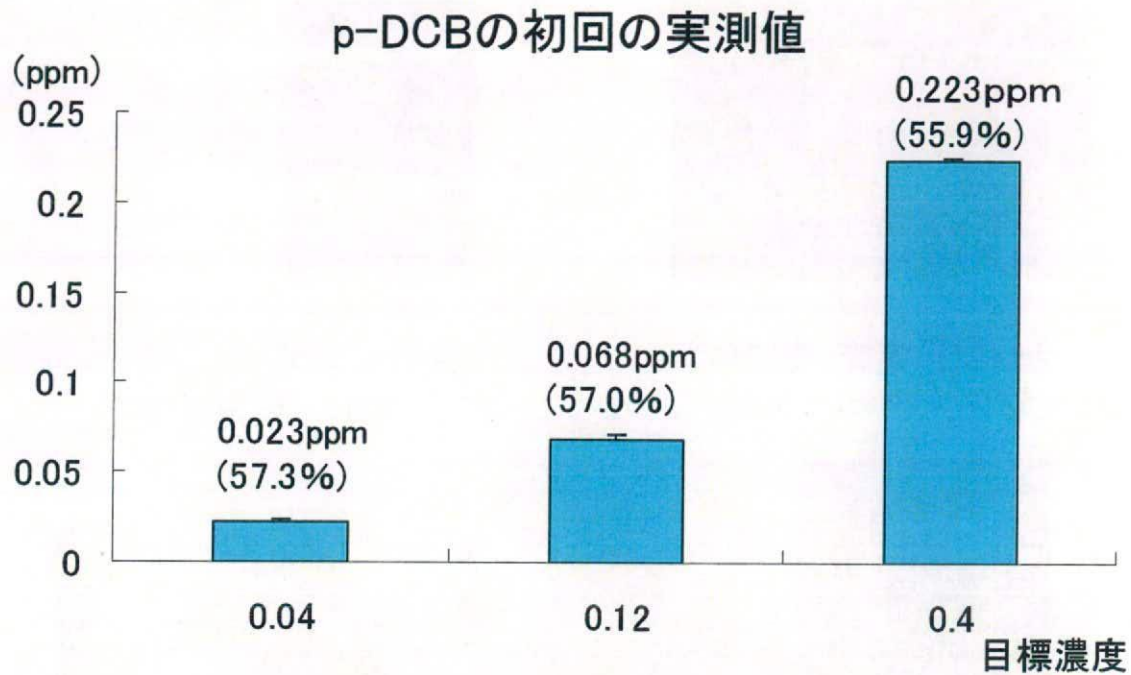


Fig.1 p-DCBの捕集管による初回の濃度測定結果

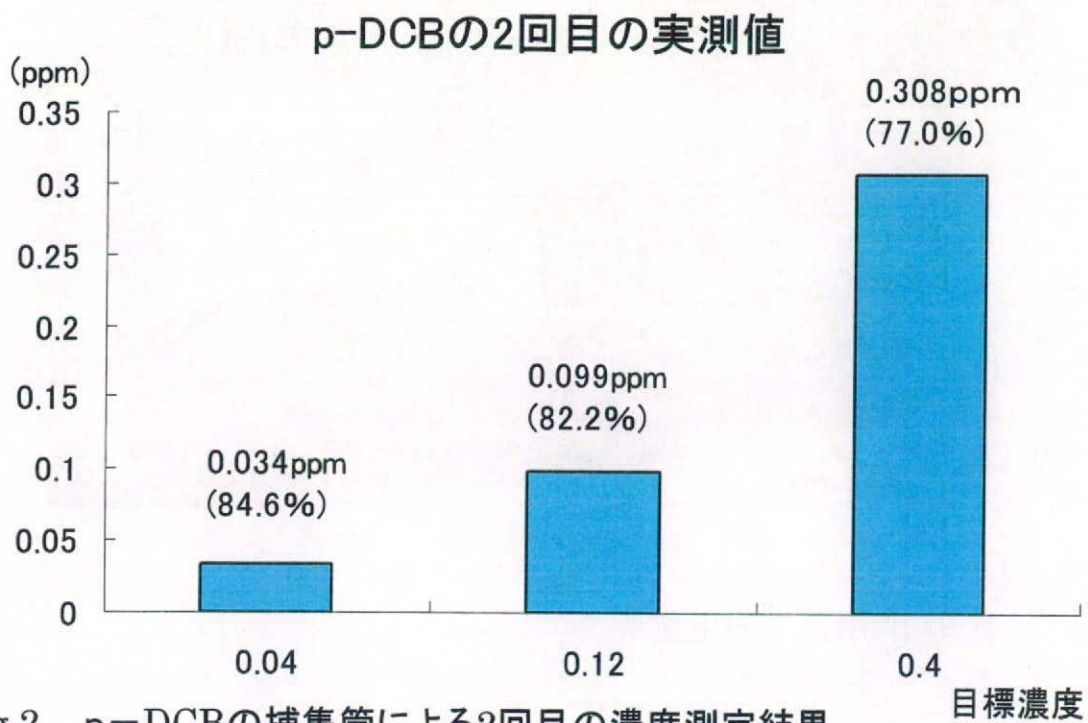


Fig.2 p-DCBの捕集管による2回目の濃度測定結果



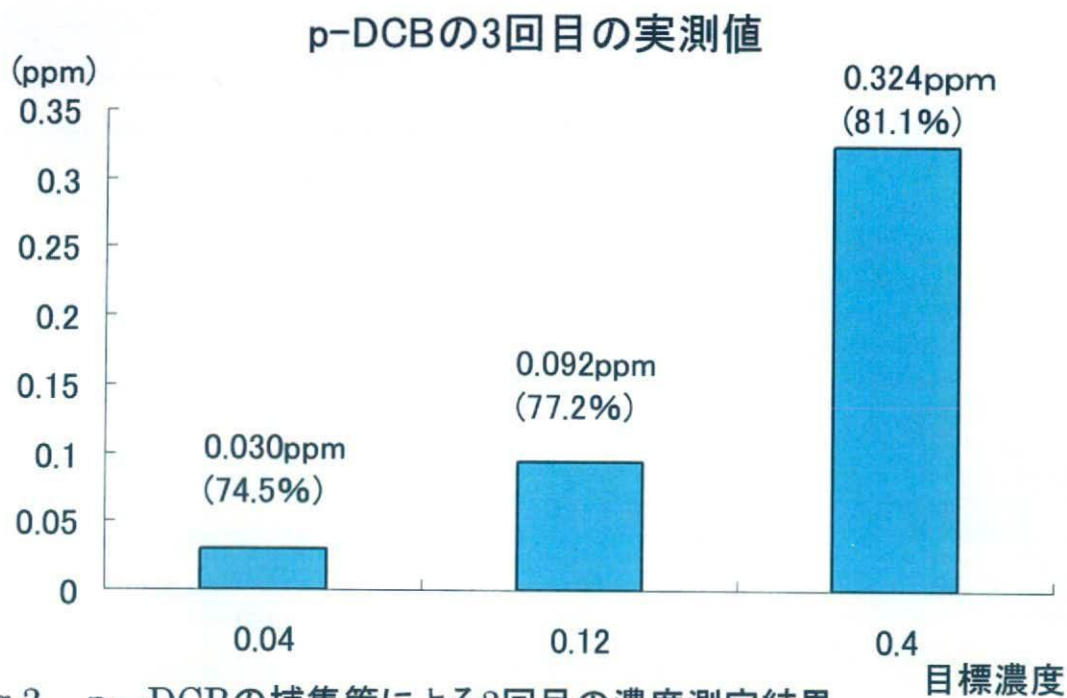


Fig.3 p-DCBの捕集管による3回目の濃度測定結果

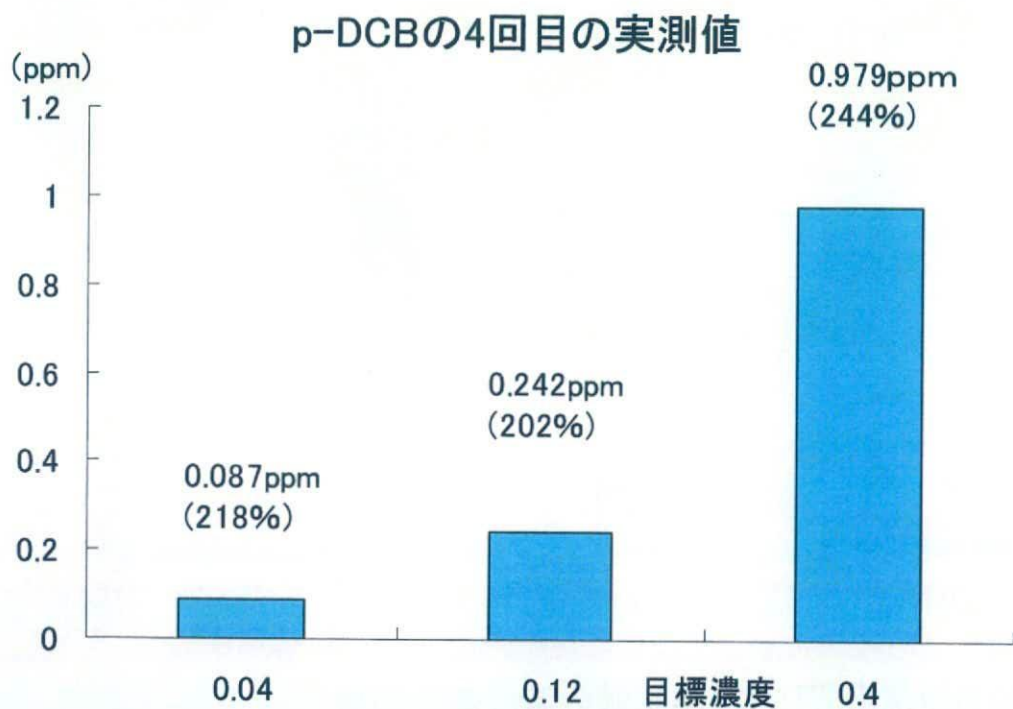


Fig.4 p-DCBの捕集管による4回目の濃度測定結果

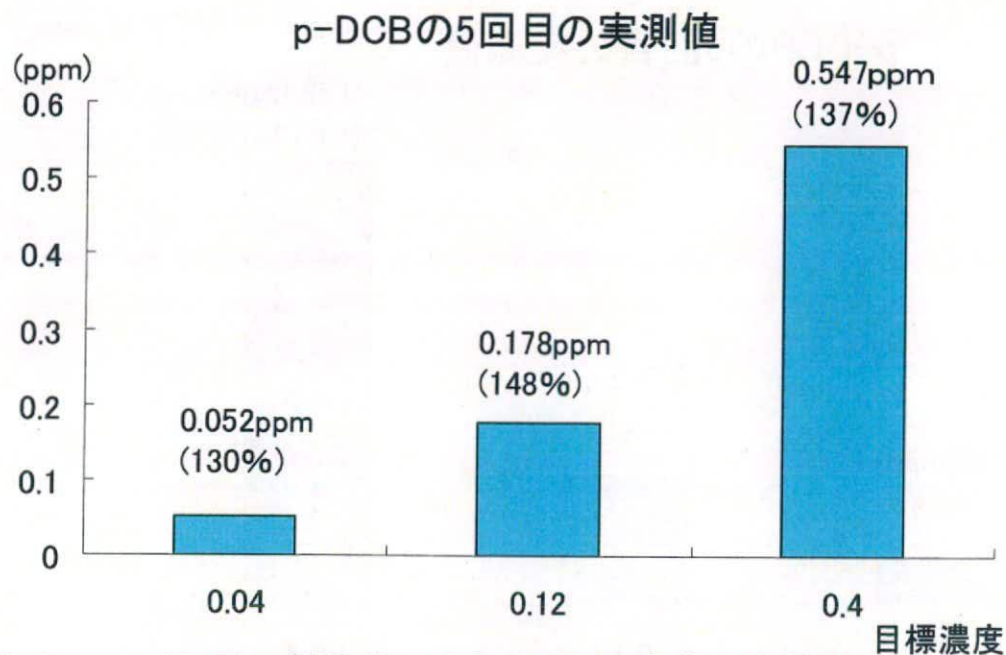


Fig.5 p-DCBの捕集管による5回目の濃度測定結果

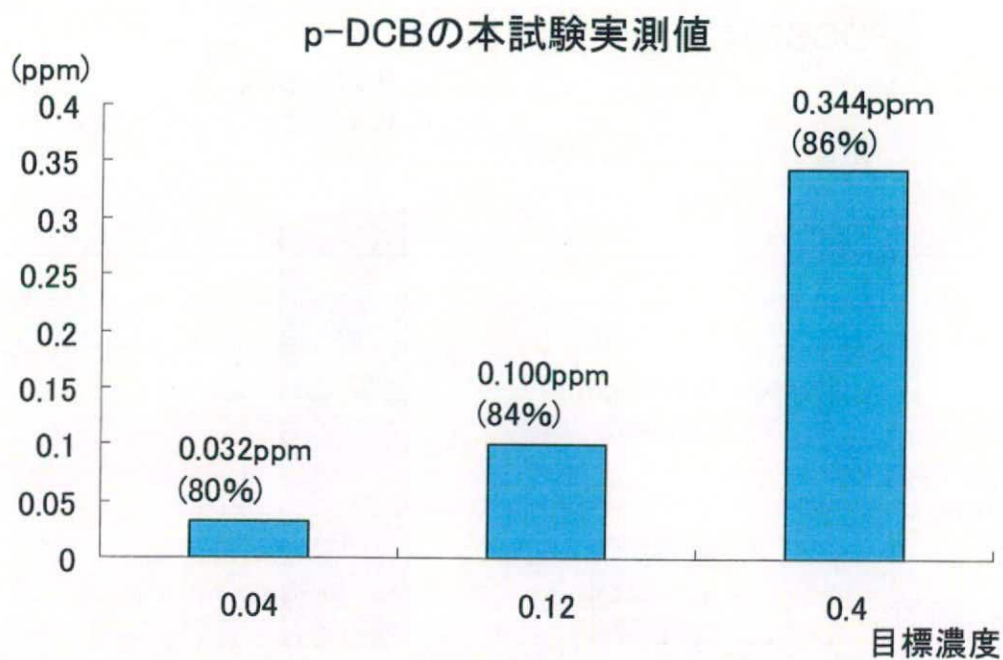


Fig.6 p-DCBの捕集管による本試験の濃度測定結果



## 委託研究報告書

- I) パラジクロロベンゼンのマウスを用いた極低濃度暴露試験報告書  
(6時間/日、7日間暴露) (平成20年度)
  
- II) パラジクロロベンゼンのマウスを用いた極低濃度暴露試験報告書  
(22時間/日、7日間暴露) (平成20年度)
  
- III) テトラデカンのマウスを用いた極低濃度暴露試験報告書  
(6時間/日、7日間暴露) (平成20年度)
  
- IV) テトラデカンのマウスを用いた極低濃度暴露試験報告書  
(22時間/日、7日間暴露) (平成20年度)

## 委託研究報告書

I) パラジクロロベンゼンのマウスを用いた極低濃度暴露試験

報告書

(6時間/日、7日間暴露)

試験番号 : 0713

CAS No. 106-46-7

中央労働災害防止協会

日本バイオアッセイ研究センター



標題

パラジクロロベンゼンのマウスを用いた極低濃度暴露試験（6時間/日、7日間暴露）

試験目的

化学物質の極低濃度暴露による生体影響検出の技術開発を目的として、生活環境中の濃度に即した極低濃度のパラジクロロベンゼン（被験物質番号 1002）をマウスに6時間/日、7日間全身暴露（経気道投与）し、遺伝子発現解析用の肺及び肝臓組織を採取する。採取した肺及び肝臓は試験委託者に送付する。

試験委託者

国立医薬品食品衛生研究所、安全性生物試験研究センター  
毒性部 小川 幸男  
〒158-8501 東京都世田谷区上用賀 1-18-1

試験施設及び運営管理者

中央労働災害防止協会 日本バイオアッセイ研究センター  
長野 嘉介  
神奈川県秦野市平沢 2445

## 試験日程

|           |                           |
|-----------|---------------------------|
| 試験開始日     | 2008年 5月 1日               |
| 動物導入日     | 2008年 5月 15日              |
| 動物馴化開始日   | 2008年 5月 21日              |
| 群構成日      | 2008年 5月 28日              |
| 被験物質投与開始日 | 2008年 5月 28日              |
| 被験物質投与終了日 | 2008年 6月 3日               |
| 定期解剖日     | 2008年 5月 28日 (1回目暴露終了時解剖) |
|           | 2008年 5月 29日 (1日目解剖)      |
|           | 2008年 5月 31日 (3日目解剖)      |
|           | 2008年 6月 4日 (7日目解剖)       |
| 試験終了日     | 2009年 1月 21日              |

## 試験関係者一覧

|                   |   |       |                  |
|-------------------|---|-------|------------------|
| 試験責任者             | : | 長野 嘉介 | (試験管理部、(兼)病理検査部) |
| 被験物質の分析・<br>投与・管理 | : | 西沢 共司 | (試験管理部 吸入試験室)    |
|                   |   | 笠井 辰也 | (試験管理部 吸入試験室)    |
|                   |   | 齋藤 新  | (試験管理部 吸入試験室)    |
|                   |   | 佐々木俊明 | (試験管理部 吸入試験室)    |
|                   |   | 大西 誠  | (試験管理部 分析室)      |
|                   |   | 武 信   | (試験管理部 分析室)      |
| 動物管理              | : | 野口 忠  | (試験管理部 動物管理室)    |
| 病理検査              | : | 相磯 成敏 | (病理検査部 病理検査室)    |
|                   |   | 妹尾 英樹 | (病理検査部 病理検査室)    |
|                   |   | 梅田 ゆみ | (病理検査部 病理検査室)    |
|                   |   | 齋藤美佐江 | (病理検査部 病理検査室)    |
| データ処理及び統計         | : | 伊川 直樹 | (企画調整部 情報管理室)    |
|                   |   | 石川 寛明 | (企画調整部 情報管理室)    |
|                   |   | 峯 多加志 | (企画調整部 情報管理室)    |